

氏名	川 井 信太郎
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	薬 学
学位授与番号	博 乙 第 2872 号
学位授与の日付	平成 7 年 3 月 25 日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第 4 条第 2 項該当)
学 位 論 文 題 目	PCR-MPH (Polymerase chain reaction-Microtiter plate hybridization) 法の確立とその応用研究
論 文 審 査 委 員	教授 早津 彦哉, 教授 篠田 純男, 教授 亀井 千晃 教授 山田 哲治, 教授 香川 弘昭

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

PCR (Polymerase Chain Reaction) 法で増幅された DNA を検出する方法として、酵素免疫測定法用の 96 穴マイクロプレートを用いた PCR-MPH (PCR-Microtiter plate hybridization) 法を開発した。本法は、ビオチン標識された PCR 増幅物と予めプレートに固定したプローブとハイブリダイズさせ、ハイブリダイズしたものを酵素法を用いて発色、検出する方法である。さらに本法では、固定するプローブとしてオリゴヌクレオチドプローブが多コピータンデムに連結したものが導入された一本鎖 DNA (ssDNA) を固定した。

本論文では、まず、子宮頸ガンと関係が深いヒトパピローマウイルス 16 型の検出をモデルにして PCR-MPH 法の開発と、オリゴヌクレオチドプローブをタンデム連結したものが導入された ssDNA の有用性について、次に、本法の臨床診断への応用としてマラリアを媒介する現在知られている 4 種類のマラリア原虫の検出とタイピングについて論述した。さらに 医学分野における DNA 診断への応用として骨髄移植や臓器移植後の正着率を決定する自己・非自己の認識に重要な役割をはたしているヒト白血球抗原 (HLA) の なかで特にクラス II 抗原である HLA-DRB1 遺伝子の DNA タイピングについて論述した。

論文審査結果の要旨

PCR (Polymerase Chain Reaction) 法で増幅された DNA を検出する方法として、酵素免疫測定法の 96 穴マイクロプレートを用いた PCR-MPH (PCR-Microtiter plate-hybridization) 法を開発した。本法は、ビオチン標識された PCR 増幅物と予めプレートに固定したプローブとハイブリダイズさせ、ハイブリダイズしたものを酵素法を用いて発色、検出する方法である。さらに本法では、固定するプローブとしてオリゴヌクレオチドプローブがタンデムに多数ユニット連結したものが導入された一本鎖 DNA を固定した。

本論文では、まず、子宮頸ガンと関係が深いヒトパピローマウイルス 16 型の検出をモデルにして PCR-MPH 法の開発と、オリゴヌクレオチドプローブをタンデムに連結したものが導入された一本鎖 DNA の有用性について、次に、本法の臨床診断への応用としてマラリアを媒介する現在知られている 4 種類のマラリア原虫の検出とタイピングについて論述した。さらに 医学分野における DNA 診断への応用として骨髄移植や臓器移植後の正着率を決定する自己・非自己の認識に重要な役割をはたしているヒト白血球抗原 (HLA) の なかで特にクラス II 抗原である HLA-DRB1 遺伝子の DNA タイピングについて論述した。

以上の研究は、博士の学位 (薬学) を与えるのに十分な内容をもつと判定した。